

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-274640

(43)公開日 平成10年(1998)10月13日

(51)Int.Cl.⁶

識別記号

F I

G 0 1 N 27/62

G 0 1 N 27/62

D

H 0 1 J 49/26

H 0 1 J 49/26

審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全 13 頁)

(21)出願番号

特願平9-80207

(22)出願日

平成9年(1997)3月31日

(71)出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72)発明者 加藤 義昭

茨城県ひたちなか市市毛882番地 株式会

社日立製作所計測器事業部内

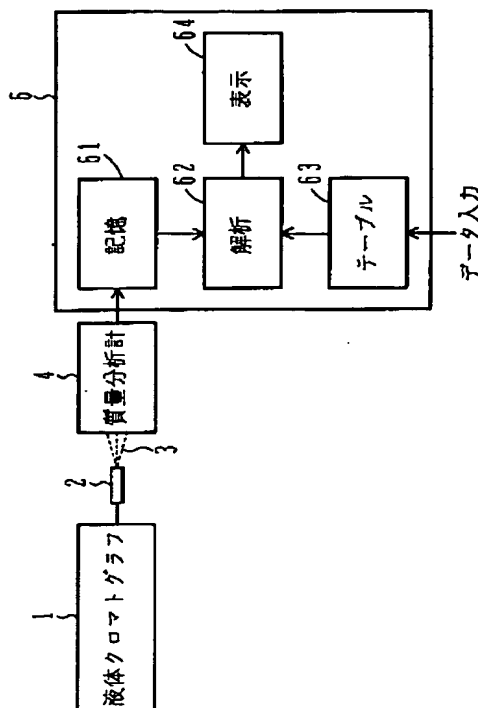
(74)代理人 弁理士 春日 謙

(54)【発明の名称】 質量分析方法及び装置

(57)【要約】

【課題】迅速に、かつ過ちの入り込む事を防ぎ、擬分子イオン、ひいては試料の分子量を高精度に推定することができる質量分析方法及び装置を実現する。

【解決手段】解析部62はマスペクトル上のスレシヨルドレベルを越えたピークを探索し、テーブル63に記憶された付加イオンの表の質量差に質量を加算し、疑似マスペクトルを作成する。解析部62は作成した疑似マスペクトルと取得したスペクトルの質量とを比較し、両者の質量が一致すれば指標Sに1を加えて最終的な指標Sを算出する。次にスレシヨルドレベルを越える他のマスピークを探索し同様な処理を実行する。得られた指標Sの値を比較し、 m/z と付加イオンとの可能性を表示部64に表示する。次に、検出したイオン種毎に出現する頻度数をカウントし記憶手段等に記憶し測定が所定回数行われていれば頻度数の高いイオン種の順に重み付けしテーブル63の付加イオンテーブルを更新する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】大気圧又はその近傍の圧力下でイオンを生成し、生成したイオンを導入して質量分析して得られる質量スペクトルを解析処理する質量分析方法において、上記得られた質量スペクトル中のうちの選択された質量と他の質量との間の質量差が、予め付加イオン記憶手段に記憶された擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差にどれだけ一致するかを指標として求め、この求めた指標に基づいて、上記質量差が一致する数が最も大となるイオンを擬分子イオンと推定することを特徴とする質量分析方法。

【請求項 2】請求項 1 記載の質量分析方法において、推定された擬分子イオンの付加イオンを、一回の質量分析毎に記憶し、所定の回数の質量分析における記憶された付加イオンの出現頻度数を求め、この求めた出現頻度数に応じて、上記複数の付加イオン種に対して重み付けを行い、この重み付けを上記付加イオン記憶手段に記憶させ、この記憶された重み付けが、上記指標に加算され、擬分子イオンを推定することを特徴とする質量分析方法。

【請求項 3】請求項 1 記載の質量分析方法において、上記得られた質量スペクトルは、分析すべき成分が出現していない部分の質量スペクトルであるバックグラウンドスペクトルを、質量分析した質量スペクトルから差し引いた質量スペクトルであることを特徴とする質量分析方法。

【請求項 4】請求項 1、2 又は 3 記載の質量分析方法において、上記付加イオン記憶手段には、質量分析に使用される溶媒の種類、イオン化の種類、スペクトルの極性毎に分割された複数の記憶テーブルに、擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差が記憶され、質量分析の分析条件により、適切な記憶テーブルが選択されることを特徴とする質量分析方法。

【請求項 5】請求項 1、2、3 又は 4 記載の質量分析方法において、上記得られた質量スペクトルは、質量分析した質量スペクトルに¹³Cの補正を行った質量スペクトルであることを特徴とする質量分析方法。

【請求項 6】請求項 1、2、3、4 又は 5 記載の質量分析方法において、上記質量スペクトルは、棒グラフで表示され、擬分子イオンとこれの付加イオンとして推定された質量ピークを示す棒グラフのバーは、その太さ又は色表示が、推定されていない他の質量ピークを示す棒グラフのバーの太さ又は色表示と識別されて表示されることを特徴とする質量分析方法。

【請求項 7】大気圧又はその近傍の圧力下でイオンを生成する手段と、生成したイオンを導入して質量分析する質量分析計と、この質量分析計から出力された質量スペクトルを解析処理するデータ処理手段とを有する質量分析装置において、上記データ処理手段は、

擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差を記憶する付加イオン記憶手段と、

上記得られた質量スペクトル中のうちの選択された質量と他の質量との間の質量差が、上記付加イオン記憶手段に記憶された複数の質量差にどれだけ一致するかを指標として求め、この求めた指標に基づいて、上記質量差が一致する数が最も大となるイオンを擬分子イオンと推定する解析部と、を備えることを特徴とする質量分析装置。

【請求項 8】請求項 7 記載の質量分析装置において、上記解析部は、推定した擬分子イオンの付加イオンを、一回の質量分析毎に記憶し、所定の回数の質量分析における記憶した付加イオンの出現頻度数を求め、この求めた出現頻度数に応じて、上記複数の付加イオン種に対して重み付けを行い、この重み付けを上記付加イオン記憶手段に記憶させ、この記憶された重み付けを、上記指標に加算し、擬分子イオンを推定することを特徴とする質量分析装置。

【請求項 9】請求項 7 記載の質量分析装置において、上記データ処理手段は、上記質量分析計から出力された質量スペクトルから、分析すべき成分が出現していない部分の質量スペクトルであるバックグラウンドスペクトルを差し引き、この差し引かれた質量スペクトルについて、上記解析部が擬分子イオンを推定することを特徴とする質量分析装置。

【請求項 10】請求項 7、8 又は 9 記載の質量分析装置において、上記付加イオン記憶手段には、質量分析に使用される溶媒の種類、イオン化の種類、スペクトルの極性毎に分割された複数の記憶テーブルに、擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差が記憶され、上記解析部は、質量分析の分析条件により、適切な記憶テーブルを選択することを特徴とする質量分析装置。

【請求項 11】請求項 7、8、9 又は 10 記載の質量分析装置において、上記データ処理手段は、上記質量分析計から出力された質量スペクトルに¹³Cの補正を行い、この補正を行った質量スペクトルについて、上記解析部が擬分子イオンを推定することを特徴とする質量分析装置。

【請求項 12】請求項 7、8、9、10 又は 11 記載の質量分析装置において、上記データ処理手段は、データ表示部を、さらに備え、上記データ表示部は、上記質量スペクトルを、棒グラフで表示し、擬分子イオンとこれの付加イオンとして推定された質量ピークを示す棒グラフのバーを、その太さ又は色表示が、推定されていない他の質量ピークを示す棒グラフのバーの太さ又は色表示と識別して表示することを特徴とする質量分析装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、質量分析計で得ら

れた質量スペクトルの分析方法に係わり、特に大気圧イオン化で得られた質量スペクトルから、分子イオン、ひいては分子量を求めるに最適な質量スペクトル分析方法及び装置に関する。

【0002】

【従来の技術】質量分析法は、極めて高感度な測定法であるばかりでなく、試料の分子量や構造情報を与えてくれる優れた分析法である。更に、最近では質量分析装置の前段にガスクロマトグラフや液体クロマトグラフなどの分離手段を設け、混合物を直接分離分析する装置が開発され、広く使用されるようになった。

【0003】一般に、質量分析計に導入された試料分子は、先ずイオン源でイオン化され、質量分析部にて質量分散され、検出器で検出されて質量スペクトルを得ることができる。

【0004】この場合、得られる質量スペクトルは、図3に示すような棒グラフとして表される。この図3は、横軸（X軸）はイオンの質量対電荷比（ m/z ）を示し、縦軸（Y軸）は最強ピークを100%としてノーマライズされた各イオンの相対強度を示している。

【0005】質量スペクトルは、分子そのものがイオン化された分子イオン（図3の例の場合、 m/z 200）や分子イオンが壊れたフラグメント（断片）イオン（図3の例の場合、 m/z 200以下の複数のイオン）や付加イオン（ m/z 200より大きいイオン）等で構成される。

【0006】また、最近では、図9に示すように、分離手段として液体クロマトグラフ（LC）1が質量分析計4に結合し、イオン化が大気圧下で行われる形式の液体クロマトグラフ直結質量分析計システム（LC/MS）が普及しはじめた。この場合の大気圧イオン化として最も普及しているものは、エレクトロスプレー法（Electro-Spray, ESI）と大気圧化学イオン化法（Atmospheric Pressure Ionization, API）とである。

【0007】ESIの場合、LC1からの溶出液を高電圧が印加されたノズル（ESIプローブ）2に導き、導かれた溶出液を、このノズル2から高電界中に噴霧することにより、電荷を帯びた液滴を生成する。この液滴を大気分子等と衝突させ、霧の微細化と乾燥を行い、イオン3を生成する。

【0008】一方、大気圧化学イオン化法（API）は、イオン分子反応により試料分子のイオン化を行う。噴霧された液滴の下流に高電圧が印加された針を配置する。この針より発生したコロナ放電により、大量に存在する溶媒分子が先ずイオン化される。溶媒イオンは更に周囲の分子と衝突し、最終的に試料分子をイオン化する。イオンは質量分析計4により質量分散、検出され、データ処理装置5により質量スペクトルが得られる。

【0009】これら両イオン化とも、ソフトな（イオン化の際のエネルギーが小さい）イオン化であるため、フラ

グメントイオンが出来にくい反面、分子にプロトンやアルカリ金属イオン（ Na^+ イオンなど）が付加した擬分子イオンが強度高く生成される。そのため、不安定な化合物なども安定にイオン化出来る。

【0010】大気圧イオン化は、大気圧下のイオン化のため、生成したイオンが、イオン化の後も大気圧下で存在する。そのため、周囲の中性分子（多くの場合、溶媒の分子）と衝突を繰り返す。また、大気圧下で生成したイオンは真空の部屋に導入され質量分析される。この真空室への導入の際、急激な膨張（断熱膨張）により、イオンは急速に冷却される。

【0011】冷却されたイオンと同様に冷却された溶媒分子がイオンと衝突すると、溶媒分子がイオンから離れられなくなり、多くの極性分子（溶媒分子）が付加した付加イオンが作られる。この付加イオンは、本来、一本のマスピーク（分子イオン）となるべきイオンが複数の付加イオンに分散するため、分子イオンの強度を下げることになる。

【0012】その結果、分子イオンのSN比ひいては装置の検出感度を見掛け上、著しく下げてしまう。また、マスペクトルが複雑になるため、この付加イオンの出現は分析の妨げとなる。そのため、市販のLC/M S装置は、付加イオンを解離させる手段（加熱やイオンの衝突活性化解離など）を有している。その結果、一般に市販のLC/M S装置によって得られる質量スペクトルにおいては、付加イオンの強度は極めて小さくなっている。

【0013】しかし、詳細に質量スペクトルを見れば、これら付加イオンは多くの場合、観察出来る場合が多い。

【0014】極性分子がイオンに付加する際の付加エネルギーは、一般に1 e V以下で、イオンを構成する化学結合（C-C、C-H結合等）の結合エネルギーに比べ非常に小さい。

【0015】したがって、分子イオンに過剰のエネルギー（熱やイオンの加速、衝突など）が加わり、フラグメントイオンが生じるとき、先ず付加分子が解離する。共有結合が切れてフラグメントイオンが生成するのはその後となる。そのため、フラグメントイオンに極性分子が付加した付加イオンは普通存在しない。

【0016】

【発明が解決しようとする課題】大気圧イオン化は、ソフトなイオン化のため、フラグメントイオンは少なく、図10に示すように、擬分子イオン（プロトン付加イオン）が強調された単純な質量スペクトルを与える。しかし、この単純さが逆に分子量決定の決め手を欠くことになる。

【0017】フラグメントイオンが数多く出現する電子イオン化法（Electron Ionization, EI）の場合、分子イオンと推定されるイオンと複数のフラグメントイオン

との間の質量差を求め、フラグメントの生成過程（これをフラグメンテーションと呼ぶ）とを対照させて分子イオンを矛盾の無い推定をする。多くのフラグメントイオンを矛盾無く説明できれば、推論がより正しいことになる。

【0018】しかし、一般にLC/MSの質量スペクトルは、図10に示したように、極めて単純になることが多い。この場合、出現しているイオンが擬分子イオンか、それとも、それが壊れたフラグメントイオンであるか、または溶媒分子が付加したイオンであるかを即座に判断出来ないからである。そのため、擬分子イオンを推定するためには、以下の複雑な試行錯誤の過程を経て分子量の推定を行わなければならない。

【0019】つまり、質量スペクトル中の取得した質量スペクトル中の高質量領域において最強ピークを先ず擬分子イオンと仮定する。次に、このマスピークとこのマスピーク周辺のイオンとの質量差を求める。そして、これらの質量差が溶媒分子やアンモニウムイオンの分子量と一致するか否かを一つ一つ調べる。一致すれば、一応、付加イオンの可能性がありと判断する。

【0020】次に、別の質量のマスピークを擬分子イオンと仮定し、同様のプロセスを経て擬分子イオンの推定を行う。これら試行錯誤のくり返しの中で最も矛盾の少ないものを、擬分子イオンと推定する。

【0021】しかし、上述した推定解析は、解析者等の人間により行われており、この推定解析の過程は、単に試行錯誤を繰り返しているに過ぎない。そのため、推定、仮定に予断が入り込みやすく、当然、見落としや思い違いが発生しやすい。結局、過ちや見過ごしの可能性が非常に高くなる。また、時間と労力を大量に消費する結果となる。

【0022】付加イオン等の出現の可能性は、化合物の物理化学的性質、LC分析条件（溶離液の種類、PH、流速、温度など）やLC/MS装置の測定条件（ESIかAPCIかインターフェイスの電圧、温度、圧力等）等に大きく影響される。解析は、これらの前提条件を加味して行う必要がある。

【0023】そのため、未知成分の質量スペクトルの解析には、高度の知識と長い経験が要求される。一般に、測定者と解析者とは異なる事が多いため、全ての分析条件を測定者から解析者に伝えられず、解析に誤りが入り込む事になる。

【0024】さらに、複数の成分がオーバーラップしてLCから溶出したような場合、または測定試料が混合物の場合、質量スペクトルが混合物のスペクトルとなる。そして、この場合、マススペクトルは複雑となり、この質量スペクトルの解析は経験者でも困難となる。

【0025】また、LC/MSの測定では、一日に1000マススペクトル以上取得することが、通常行われる。そのため、大量に取得した質量スペクトルの解析は

多くの時間と労力を必要とし、測定以上に解析に時間を割かねばならなくなる。そのため、当然、解析の誤りが発生しやすくなる。これがLC/MS定性分析の効率向上の大きな妨げとなってきた。

【0026】本発明の目的は、迅速に、かつ過ちの入り込む事を防ぎ、擬分子イオン、ひいては試料の分子量を高精度に推定することができる質量分析方法及び装置を実現することである

【0027】

【課題を解決するための手段】

（1）上記目的を達成するため、本発明は次のように構成される。すなわち、大気圧又はその近傍の圧力下でイオンを生成し、生成したイオンを導入して質量分析して得られる質量スペクトルを解析処理する質量分析方法において、上記得られた質量スペクトル中のうちの選択された質量と他の質量との間の質量差が、予め付加イオン記憶手段に記憶された擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差にどれだけ一致するかを指標として求め、この求めた指標に基づいて、上記質量差が一致する数が最も大となるイオンを擬分子イオンと推定するように構成される。

【0028】自動的に分子イオンを推定することが可能に構成されているので、迅速に、かつ過ちの入り込む事を防ぎ、擬分子イオン、ひいては試料の分子量を高精度に推定することができる質量分析方法を実現することができる。

【0029】（2）好ましくは、上記（1）において、推定された擬分子イオンの付加イオンを、一回の質量分析毎に記憶し、所定の回数の質量分析における記憶された付加イオンの出現頻度数を求め、この求めた出現頻度数に応じて、上記複数の付加イオン種に対して重み付けを行い、この重み付けを上記付加イオン記憶手段に記憶させ、この記憶された重み付けが、上記指標に加算され、擬分子イオンを推定する。

【0030】出現頻度が高いイオン種については、重み付けをして、付加イオン記憶手段に記憶させるように構成しているので、個々の質量分析装置により、数多く分析される分析対象物の質量分析精度を向上することができる。

【0031】（3）また、好ましくは、上記（1）において、上記得られた質量スペクトルは、分析すべき成分が出現していない部分の質量スペクトルであるバックグラウンドスペクトルが、質量分析した質量スペクトルから差し引かれた質量スペクトルである。

【0032】（4）また、好ましくは、上記（1）、（2）又は（3）において、上記付加イオン記憶手段には、質量分析に使用される溶媒の種類、イオン化の種類、スペクトルの極性毎に分割された複数の記憶テーブルに、擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差が記憶され、質量分析の分析条件により、適切な

な記憶テーブルが選択される。

【0033】質量分析の分析条件により、適切な記憶テーブルが選択されるので、分析条件に応じた最適な、擬分子の推定が可能となる。

【0034】(5) また、好ましくは、上記(1)、(2)、(3)又は(4)において、上記得られた質量スペクトルは、質量分析した質量スペクトルに¹³Cの補正を行った質量スペクトルである。

【0035】(6) また、好ましくは、上記(1)、(2)、(3)、(4)又は(5)において、上記質量スペクトルは、棒グラフで表示され、擬分子イオンとこれの付加イオンとして推定された質量ピークを示す棒グラフのバーは、その太さ又は色表示が、推定されていない他の質量ピークを示す棒グラフのバーの太さ又は色表示と識別されて表示される。

【0036】擬分子イオンと推定された質量ピークを示す棒グラフのバーが、他のマスピークより太いバーで示されるので、擬分子イオンを明確に示すことが出来る。

【0037】(7) また、大気圧又はその近傍の圧力下でイオンを生成する手段と、生成したイオンを導入して質量分析する質量分析計と、この質量分析計から出力された質量スペクトルを解析処理するデータ処理手段とを有する質量分析装置において、上記データ処理手段は、擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差を記憶する付加イオン記憶手段と、上記得られた質量スペクトル中のうちの選択された質量と他の質量との間の質量差が、上記付加イオン記憶手段に記憶された複数の質量差にどれだけ一致するかを指標として求め、この求めた指標に基づいて、上記質量差が一致する数が最も大となるイオンを擬分子イオンと推定する解析部と、を備える。

【0038】自動的に分子イオンを推定することが可能に構成されているので、迅速に、かつ過ちの入り込む事を防ぎ、擬分子イオン、ひいては試料の分子量を高精度に推定することができる質量分析装置を実現することができる。

【0039】(8) 好ましくは、上記(7)において、上記解析部は、推定した擬分子イオンの付加イオンを、一回の質量分析毎に記憶し、所定の回数の質量分析における記憶した付加イオンの出現頻度数を求め、この求めた出現頻度数に応じて、上記複数の付加イオン種に対して重み付けを行い、この重み付けを上記付加イオン記憶手段に記憶させ、この記憶された重み付けを、上記指標に加算し、擬分子イオンを推定する。

【0040】出現頻度が高いイオン種については、重み付けをして、付加イオン記憶手段に記憶させるように構成しているので、個々の質量分析装置により、数多く分析される分析対象物の質量分析精度を向上することができる。

【0041】(9) また、好ましくは、上記(7)にお

いて、上記データ処理手段は、上記質量分析計から出力された質量スペクトルから、分析すべき成分が出現していない部分の質量スペクトルであるバックグラウンドスペクトルを差し引き、この差し引かれた質量スペクトルについて、上記解析部が擬分子イオンを推定する。

【0042】(10) また、好ましくは、上記(7)、(8)又は(9)において、上記付加イオン記憶手段には、質量分析に使用される溶媒の種類、イオン化の種類、スペクトルの極性毎に分割された複数の記憶テーブルに、擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差が記憶され、上記解析部は、質量分析の分析条件により、適切な記憶テーブルを選択する。

【0043】質量分析の分析条件により、適切な記憶テーブルが選択されるので、分析条件に応じた最適な、擬分子の推定が可能となる。

【0044】(11) また、好ましくは、上記(7)、(8)、(9)又は(10)において、上記データ処理手段は、上記質量分析計から出力された質量スペクトルに¹³Cの補正を行い、この補正を行った質量スペクトルについて、上記解析部が擬分子イオンを推定する。

【0045】(12) また、好ましくは、上記(7)、(8)、(9)、(10)又は(11)記載の質量分析装置において、上記データ処理手段は、データ表示部を、さらに備え、上記データ表示部は、上記質量スペクトルを、棒グラフで表示し、擬分子イオンとこれの付加イオンとして推定された質量ピークを示す棒グラフのバーを、その太さ又は色表示が、推定されていない他の質量ピークを示す棒グラフのバーの太さ又は色表示と識別して表示する。

【0046】擬分子イオンと推定された質量ピークを示す棒グラフのバーが、他のマスピークより太いバーで示されるので、擬分子イオンを明確に示すことが出来る。

【0047】

【発明の実施の形態】図1は、本発明の第1の実施形態である質量分析方法を実現する質量分析装置の概略構成図であり、液体クロマトグラフ(LC)に適用した場合の例であり、図9に示した例と同等な部分には、同一の符号が付されている。

【0048】図1において、質量分析計4により分析された質量のマススペクトルは、データ処理装置6のマススペクトル記憶部61に入力され、記憶される。そして、マススペクトル記憶部61に記憶されたマススペクトルは、解析部62が、テーブル63に格納された後述する付加イオンテーブル(付加イオン記憶手段)を、参照して、擬分子イオンを推定する。推定部62によって解析された結果は、表示部64で棒グラフ等により表示される。

【0049】表1に示す付加イオンテーブルは、大気圧化学イオン化の場合の良く出現する付加イオンを示すものである。なお、この付加イオンテーブル及び後述する

他の付加イオンテーブルは、本願の発明者らによる実験により得られたものである。また、以下の付加イオンの表の中で、プロトン化イオンから水分子が脱離した脱水ピークも擬分子イオンの推定の決め手となるため表に加

えてある。

【0050】

【表1】

質量差	イオン種	
-18	脱水ピーク	フラグメントイオン
0	プロトン付加イオン	(M+1) 擬分子イオン
+17	アンモニウムイオン付加イオン	(M+NH ₄)
+32	メタノール付加イオン	
+41	アセトニトリル付加イオン	
+49	アンモニア+メタノール付加	
+58	アンモニア+アセトニトリル付加	
+60	酢酸付加イオン	
+77	酢酸アンモン付加	

【0051】 この表1の中で、アンモニアイオン付加イオン (M+NH₄)⁺ は、プロトン付加イオン (M+H)⁺ と同様に、擬分子イオンの一つといえる。他のイオンはこれら擬分子イオンに更に中性の溶媒分子等が付加したものである。APCIはESIと異なり、アルカリ金属イオン (NaやKイオン) が付加したイオンは一般に

出現しない。

【0052】 表2に示す付加イオンテーブルは、ESIスペクトル中に出現する擬分子イオンや付加イオンを示すものである。

【0053】

【表2】

質量差	イオン種
-18	脱水ピーク
0	プロトン付加
+17	アンモニウムイオン 付加イオン
+22	+Na
+32	メタノール付加
+39	+K
+41	アセトニトリル付加
+49	アンモニア+メタノール
+54	+Na+メタノール
+58	アンモニア+メタノール

質量差	イオン種
+60	酢酸付加
+68	+Na+アセトニトリル
+70	+K+メタノール
+77	酢酸アンモン付加
+79	+K+アセトニトリル

【0054】表2において、プロトン化イオンの他、アルカリ金属イオンが付加した(M+Na)⁺、(M+K)⁺イオン等は良く観察される。大気圧化学イオン化(APCI)と同様に、これらイオンに溶媒分子が付加したイオンも良く出現する。

【0055】上述した付加イオンテーブルは、外部入力手段により、テーブル63に入力可能となっている。

【0056】図2は、データ処理装置6によるマススペクトルの解析の全体動作を示すフローチャートである。図2のステップ100において、解析部62は、マススペクトル記憶部61からマススペクトルを読み出す。

【0057】次に、ステップ101において、解析部62は、バックグラウンド処理及びノーマライズを行う。普通、取得した質量スペクトルに溶媒イオンや不純物のイオンが混入する。特に、質量分析計に導入される試料の量が少ない場合、バックグラウンドは顕著になる。このバックグラウンドは後の解析に誤りを起こさせる可能性があるため、成分が出現していない部分の質量スペクトルをバックグラウンドスペクトルとして成分に相当する質量スペクトルから差し引きを行う。

【0058】そして、ノーマライズ処理においては、最強度のイオンを100として他のマスピークの相対強度を求める。これにより、質量分析計に導入される試料の

量に依存せずに他のマススペクトルと比較が出来るようになる。

【0059】また、実際の質量スペクトルは、ベースライン近傍に、ノイズによるピークが存在する。これらは以後の比較において妨害となるため、取り除く必要がある。このため、スレシヨルドレベルを設け、これを越えたピークのみを比較の対象とし、ノイズの影響を排除する。

【0060】次に、ステップ102において、同位体ピークの除去を行う。自然の炭素中には約1%の¹³Cが含まれる。この炭素の同位体由来するマスピークを質量スペクトルから取り除くことで、後の処理が正確さ増す事が出来る。もし、イオンを構成する炭素の数がわかれば、イオン強度に炭素数を乗じ、更にその1/100を求めれば、同位体の強度が概略求められる。しかし、一般に、イオンを構成する炭素原子の数は、予め求めることはできない。

【0061】そこで、ステップ102における以下の近似により、おおよその炭素原子を推定することとする。これにより、以下の擬分子イオン推定の処理は進められる。

【0062】イオン強度Imの質量mのイオンから由来する天然¹³C同位体の寄与は¹³C/¹²Cの比が1%であ

ることから、同位体の寄与分は、質量 $m+1$ のイオンに対して、次式(1)で近似出来る。

$$I_{m+1} \times (m/14) \times 0.01 \quad \text{--- (1)}$$

$$I_{m+1}' = I_{m+1} - I_{m+1} \times (m/14) \times 0.01 \quad \text{--- (2)}$$

ここで、もし $I_{m+1}' < 0$ なら、 $I_{m+1}' = 0$ とする。

【0063】今、質量200のイオンの強度を100、質量201のイオンの強度を20とした場合、質量20

$$100 \times (200/14) \times 0.01 = 14.2 \quad \text{--- (3)}$$

質量201のマスピック強度20の内、約14が質量200のイオンの同位体ピークと見なされる。その結果、 $20 - 14 = 6$ 、即ち、強度6が質量201の本来のイオン強度と見なされる。この処理により、図3に示した質量スペクトルは、図4に示すように単純化される。

【0064】そして、ステップ104において、ステップ103にて推定された分子イオン等が、CRTやプリンタ等の表示部64に供給され、表示出力される。

【0065】次に、上述したステップ103における擬分子イオンの探索の詳細な処理を、図5のフローチャートに従って説明する。図5のステップ200において、解析部62は、マススペクトル上に上記スレシヨルドレベルを越えたピークを探索する。そして、そのピークを探索すると、ステップ201に進む。

【0066】ステップ201において、解析部62は、テーブル63に記憶された付加イオンの表(上述した表1、表2等)の質量差に質量 m/z を加算し、疑似マススペクトルを作成する。そして、ステップ202において、解析部62は、作成した疑似マススペクトル(イオン強度は無いが)と取得したスペクトルの質量とを比較し、両者の質量が一致すれば、指標Sに1を加えていき、最終的な指標Sを算出する。

【0067】次に、ステップ203において、スレシヨルドレベルを越える他のマスピックを探索する。そして、ステップ204において、比較すべきマスピックがあれば、ステップ201に進み、上述したステップ201~203を実行する。ステップ204において、比較すべきマスピックが他に存在しなければ、ステップ205に進む。

【0068】ステップ205においては、得られた指標Sの値を比較して、最大から並び替え、 m/z と付加イオンとの可能性をCRTやプリンタ等の表示部64に表示する。

【0069】次に、ステップ206において、上述した処理において、検出されたイオン種毎に、出現する頻度をカウントして、解析部62内の記憶手段等に記憶する。そして、ステップ207において、測定が所定回数だけ実行されていれば、ステップ206にて、カウントされた頻度数の高いイオン種の順に重み付けを行い、テーブル63に記憶された付加イオンテーブルを書き換える。そして、処理は終了となる。

【0070】上述したステップ206及び207におけ

そのため、同位体の寄与分を除去した質量 $m+1$ のイオンのイオン強度 I_{m+1}' は、次式(2)で求められる。

0のイオンの質量201への同位体の寄与分は、次式(3)で求めることができる。

る重み付けは、ステップ202において、一致したイオン種の重み付けされた値が指標Sに加算される。この加算される値は、例えば、通常のイオン種を1とすれば、出現頻度が高いイオン種の場合は、1.5等となる。

【0071】このように、出現頻度が高いイオン種については、自動的に重み付けをして、付加イオンテーブルを更新するように構成しているので、個々の質量分析装置により、数多く分析される分析対象物の質量分析精度を向上することができる。

【0072】以上のように、本発明の第1の実施形態である質量分析方法及び装置によれば、データ処理装置により、自動的に分子イオンを推定するように構成されているので、迅速に、かつ過ちの入り込む事を防ぎ、擬分子イオン、ひいては試料の分子量を高精度に推定することができる質量分析方法及び装置を実現することができる。

【0073】さらに、本発明の第1の実施形態によれば、出現頻度が高いイオン種については、自動的に重み付けをして、付加イオンテーブルを自動的手に更新するように構成しているので、個々の質量分析装置により、数多く分析される分析対象物の質量分析精度を向上することができる。

【0074】図6は、本発明の第2の実施形態である質量分析方法の動作フローチャートである。この第2の実施形態の質量分析方法を実現する質量分析装置の構成については、上述した第1の実施形態における構成と同様となるので、図示及びその説明は省略する。また、この第2の実施形態は、上述した第1の実施形態と異なり、質量差から指標を求める方法である。

【0075】図6のステップ300において、解析部62は、記憶部61からマススペクトルを読み出す。ここで、バックグラウンドの減算を経て得られたマススペクトルを図3に示すものとする。

【0076】そして、この図3のマススペクトルに、同位体の処理を施し、図4に示すマススペクトルが得られる。次に、ステップ301において、読みだしたマススペクトルから所定のスレシヨルドレベルを越えたピークを探索する。図4の例では、質量200、217、232、249とする。

【0077】次に、ステップ302において、選出されたピークのうち、一番質量が小さいピークを選出する。この場合、質量200である。そして、ステップ3

03において、選ばれた質量200のピークと、他の選ばれたピークの質量(217、232、249)との質量差を算出する。この場合、17、32、49が算出される。

【0078】続いて、ステップ304において、算出した質量差とテーブル63に記憶された付加イオンテーブルとを比較し、一致すれば、カウントアップする。つまり、イオン化がAPCIで正イオンの場合、付加イオンテーブルは、上記表1を利用する。

【0079】そして、上記3つの質量差が、表1に存在するか否かを調べ、質量差が表中に存在すれば指標Sに1を加える。この場合、質量差3つが合致するので、指標は3となる。

【0080】そして、ステップ305において、スコア、つまり、得られた指標Sを記憶し、次のマスピークを選びだす。この場合においては、質量217が選ばれ

る。次に、ステップ306において、比較するピークがあるか否かを判定する。

【0081】この場合、質量217に比較するピークは、200、232と249とが存在するため、ステップ303に戻る。ステップ303では、質量217と他のイオンの質量差を求める。この場合、-17、15、32が得られる。

【0082】続いて、上述したステップ304と同様に、これらの質量差と表1とを比較する。この場合、合致するものは一つしか無いため、指標Sは1となる。以降、同様に、ステップ305、306を実行し、次々に擬分子イオンを仮定して質量差を求め、指標Sを算出して行く。その結果を以下に示す。

【0083】

【表3】

仮定された擬分子イオン	質量差	指標
200	17、32、49	3
217	-17、15、32	1
232	-32、-15、17	1
249	-49、-32、-17	0

【0084】上記結果から、擬分子イオンとして、指標Sが3である200が最も可能性が高い。

【0085】次に、ステップ307において、スコア(指標S)を並び替えて、最高スコアから順番に、表示部64により、出力する。次のステップ308及び309は、図5に示したステップ206及び207と同様であるので、説明は省略する。

【0086】上述した例は、図4に示したマススペクトルから分子イオンを推定する経過であるが、次に、図7に示したマススペクトルから分子イオンを推定する経過

を説明する。

【0087】この図7に示す質量スペクトルは、混合物の質量スペクトルである。そのため、多数のイオンが一つのマススペクトル上に出現している。そして、この場合、選択されるマスピークは、182、200、212、217、230、232、247、262となる。これら選択されたピークにちて、上述と同様の過程にしたがって指標Sを求めていく。その結果を以下に示す。

【0088】

【表4】

No.	仮定擬分子 イオン	質量差	指標
1	182	18、30、35、48 50、65、80	0
2	200	-18、12、17、30 32、47、62	3
3	212	-30、-12、5、18 20、35、50	0
4	217	-35、-17、-5、13 15、30、45	0
5	230	-48、-30、-18 -13、2、17、32	3
6	232	-50、-32、-20 -15、-2、15、30	0
7	247	-65、-47、-35 -30、-17、-15、15	0
8	262	-80、-62、-50 -45、-32、-30、-15	0

【0089】上記結果から、仮定のNo. 2とNo. 5とが同じ指標値3を示している。この場合、擬分子イオン200と230との2つの成分が混合していると推定できる。

【0090】このように、上述した手法を使えば、例えば、試料が混合物の場合でも擬分子イオンを正確に推定

できる。

【0091】以上に示した付加イオンの表に加えて、次に示すAPCI、ESI負イオン負かイオンの表もテーブル63に記憶されている。

【0092】

【表5】

APCI、ESI 負イオン付加イオンのテーブル

質量差	イオン種	
0	プロトン脱離イオン	$M-1$
+32	メタノール付加	
+35	塩素付加	
+60	酢酸付加	$M+CH_3CO_2^-$

【0093】上述した付加イオンの表は、イオン化モード（ESIかAPCIか）、正イオンか負イオンかにより切り替えて使用する。これは、質量分析計に直結したデータ処理装置なら、取得したデータがどのような分析モードで取得したかが理解できるため、自動的に表の選択は出来る。もちろんキーボード等の外部入力手段により、テーブル63に記憶された表の選択を行ってもよい。

【0094】また、質量分析に使用される溶媒の種類、イオン化の種類、スペクトルの極性毎に分割された複数の記憶テーブルに、擬分子イオンと複数の付加イオン種との間の複数の質量差を記憶しておき、質量分析の分析条件により、適切な記憶テーブルを解析部62により選択するように構成することもできる。

【0095】以上、説明した本発明の第2の実施形態においても、第1の実施形態と同様な効果を得ることができる。

【0096】なお、化合物や分析条件により、付加イオンの様子も変わる場合がある。この場合は、取得したデータを研究者が解析し擬分子イオンを特定出来れば、これをデータ処理装置のメモリに転送し、研究者特有の付加テーブルを作ることが出来る。

【0097】また、上述した類似度の指標の計算法については、イオンの強度をまったく加味せず、単にスレシヨルドレベルを越えたピークについてカウントしたが、イオン強度をこのカウントの重みとして利用する事も出来る。

【0098】また、付加イオンの表もイオン強度を無視した場合について説明したが、多くのスペクトルが既に取得されていることから、これを積算し平均パターンを求めこれを表として記憶させることもできる。この場合、比較する2つのスペクトル（表と取得されたスペクトル）イオンのイオン強度の平均値を重みとすれば良い。

【0099】以上の分子イオン推定の後、この結果をC

RT等の表示部64に表として、棒グラフ（バーグラフ）と併せて表示すれば良い。また、図8に示すように、バーグラフに擬分子イオン、付加イオンの関連がわかるように、擬分子イオンと付加イオンとを他のマスピークより太いバーで示すことで擬分子イオンを明確に示すことが出来る。

【0100】また、擬分子イオンとその付加イオンの組み合わせを同じ色の棒で示し、他の擬分子イオンのグループを別の色で示しても良い。要は、擬分子イオンが明瞭にバーグラフ上に示されればよい。これにより、混合物の場合には、より直感的に状況を把握出来る様になる。

【0101】

【発明の効果】本発明は、以上説明したように構成されているため、次のような効果がある。データ処理装置により、自動的に分子イオンを推定するように構成されているので、迅速に、かつ過ちの入り込む事を防ぎ、擬分子イオン、ひいては試料の分子量を高精度に推定することができる質量分析方法及び装置を実現することができる。

【0102】さらに、出現頻度が高いイオン種については、自動的に重み付けをして、付加イオンテーブルを自動的に手に更新するように構成しているので、個々の質量分析装置により、数多く分析される分析対象物の質量分析精度を向上することができる。

【0103】また、擬分子イオンの推定、ひいては分子量の推定が解析者の経験の有無を問わず出来る。また、混合物の場合も複数の化合物の組み合わせを推定出来るため、解析誤りや時間の浪費を防ぐ事が出来る。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1の実施形態である質量分析方法を実現する質量分析装置の概略構成図である。

【図2】図1のデータ処理装置によるマスマスペクトルの解析の全体動作を示すフローチャートである。

【図3】大気圧イオン化で得られる質量スペクトルを示すグラフである。

【図4】スレシヨルド処理及び同位体処理が行われた質量スペクトルを示すグラフである。

【図5】擬分子イオンの探索の詳細な処理を示すフローチャートである。

【図6】本発明の第2の実施形態である質量分析方法の動作フローチャートである。

【図7】混合物の質量スペクトルを示すグラフである。

【図8】擬分子イオンと付加イオンとを他のマスピークより太いバーグラフで示したグラフである。

【図9】従来における液体クロマト直結質量分析計の概略構成図である。

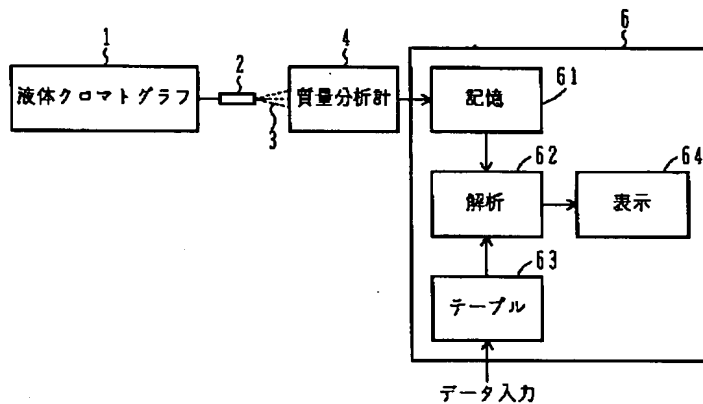
【図10】大気圧イオン化により得られる質量スペクト

ルの一例を示すグラフである。

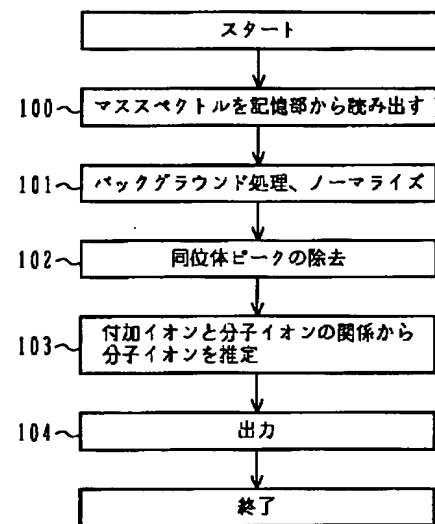
【符号の説明】

- 1 液体クロマトグラフ (LC)
- 2 ESIプローブ
- 3 イオン
- 4 質量分析計
- 6 データ処理装置
- 61 記憶部
- 62 解析部
- 63 テーブル
- 64 表示部

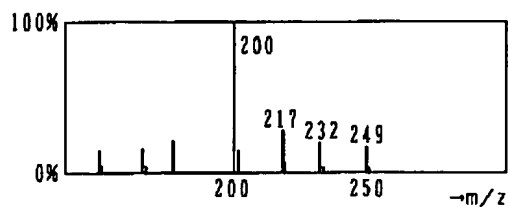
【図1】



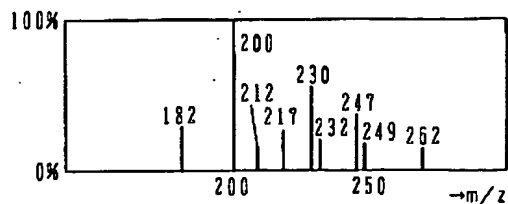
【図2】



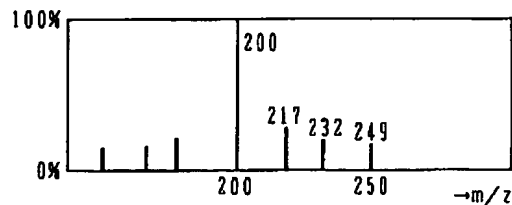
【図3】



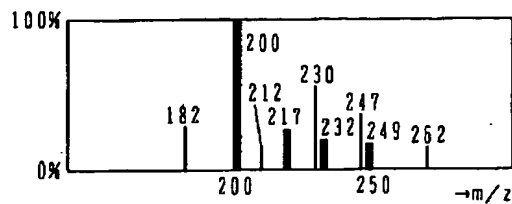
【図7】



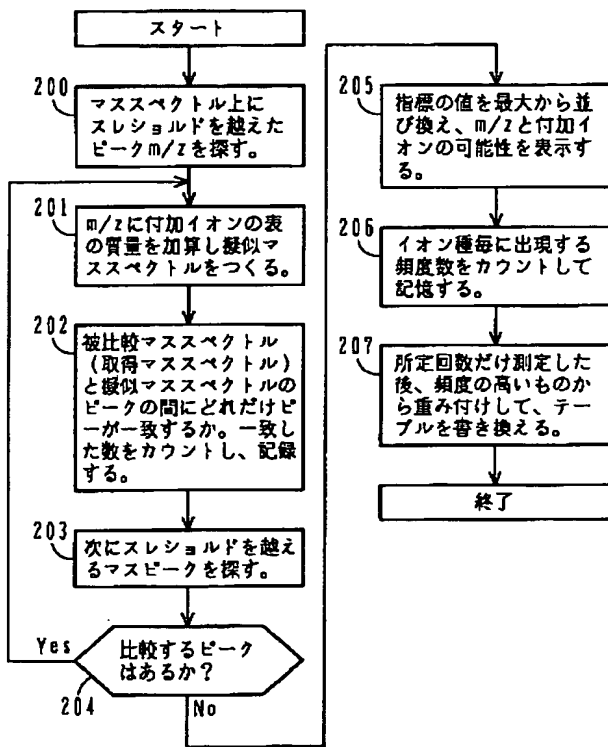
【図4】



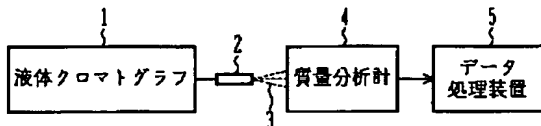
【図8】



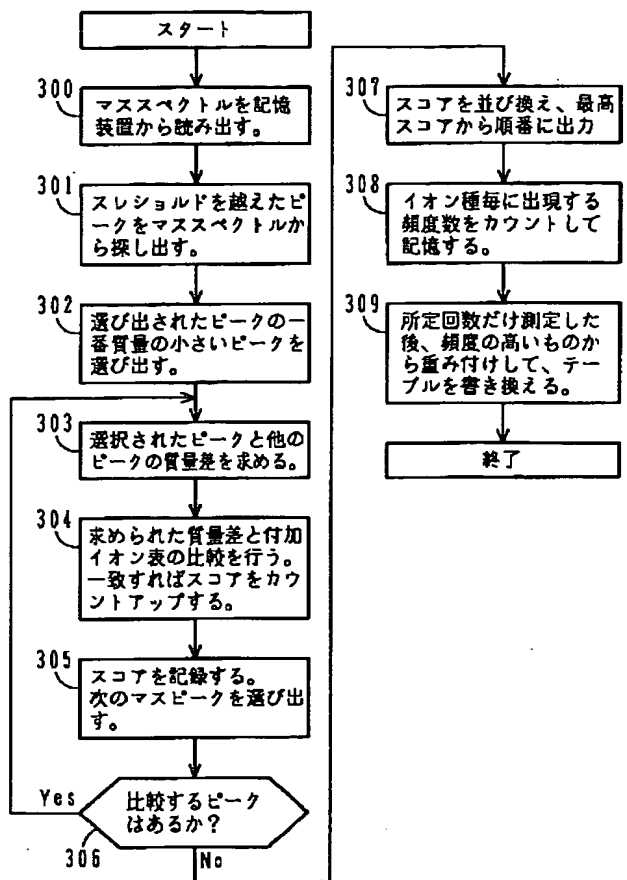
【図 5】



【図 9】



【図 6】



【図 10】

